

K 型 Bence-Jones 蛋白型骨髓腫の一例

秋田赤十字病院臨床病理部

根本 一蔵 猪岡文之助 男鹿 光子
吉田 久子 太田 マキ 細部 貞広
佐藤美知子 工藤 節子 栗林 詳子
渡辺久仁子 佐々木美和子

はじめに

免疫グロブリンの研究のいちじるしい進歩に伴い、その組成構造⁴⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾も明らかとなり、多発性骨髓腫は L-chain および H-chain 合成機構上の異常という観点から再認識されてきている⁸⁾。また優れた抗血清の入手が容易であるので、免疫グロブリンも比較的簡単に同定することができるようになっていく。

われわれは最近、細胞の異型性が強く、 γ -グロブリンが著しく減少し、免疫電気泳動法でも免疫グロブリンが異常低値を示し、特に IgA, IgM は定性反応ではその沈降線が認められず、かつ凝血因子活性の異常に亢進をみとめた、K 型 Bence-Jones 蛋白型骨髓腫の一例を経験したので、これの検査成績ならびに検査法について報告する。

症 例

54歳の主婦で、昭和43年春頃から上気道感染を繰り返す、貧血と血小板減少による出血傾向を示し、免疫グロブリンの減少とともに、肺炎を併発して死亡した。

検査成績

1) Bence-Jones 蛋白 (以下 B.J.P) の検出について。

B.J.P. の検出については、いろいろの方法⁵⁾⁶⁾⁷⁾¹⁸⁾が記載されている。われわれの検討成績は第1表に表示したが、2 M 酢酸緩衝液⁶⁾、すなわち 2 N 酢酸液、2 M 酢酸曹達等の等量混和液を用いて検査し、陽性の結果を得た。単に酢酸酸性とした際の検査では陽性とならず、緩衝液を用い、pH 4.6 ~ 4.8 において陽性を示した。

B.J.P 検出上特に留意すべき点は、pH が非常に影響することで、単に煮沸試験、あるいは酢酸々

表1 Bence-Jones 蛋白検査成績

被 検 尿	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
2 M 酢酸混液		1 ml	2 ml	3 ml	酢酸酸性
煮沸前の pH	8.34	4.80	4.60	4.40	
煮沸後の pH	8.22	4.80	4.60	4.60	
成	50°C	(-)	(±)	(+)	(-)
	90°C	(-)	(±)	(-)	(-)
	100°C	(-)	(-)	(-)	(-)
績	冷やす	(-)	(±)	(±)	(+)

性尿では見落される危険性のあることである。

B.J.P の K 型と L 型では pH によつて反応性に差がみられる。K 型も L 型も共通して pH 5 前後のところで一番強い反応が出る。しかし K 型の場合は反応する pH の範囲が狭く、pH 4 から 6 ままでである。しかるに L 型の場合はかなりアルカリ側に寄つたところまで反応する。ゆえにその条件を一定にしないと、陽性になるものもあるし、ならないものもある¹⁸⁾。また指示薬の蛋白誤差を利用した試験紙法では、B.J.P があつても陽性に出にくいことを忘れてはならない⁷⁾¹⁸⁾。

今井、桃井¹⁾の報告によれば、B.J.P (-) として送られて来た尿について順次 pH を変えて検査すると、一定の pH (4.5) のみ典型的な反応を示した例を報告している。われわれの実験例では、被検尿 5 ml + 緩衝液 3 ml, pH 4.60 で最も強く陽性となつた。

2) 血液像検査成績

a) 末梢血液検査

入院時の末梢血液像は第2表に表示したが、低色素性貧血と著明な核左方推移、4.5%の腫瘍細胞の出現を見、全経過中異型性の強い、形質細胞様腫瘍細胞が2~7%みとめられた。

表2 末梢血液像

S 44.16/VII 21X 23/XII

赤血球 $\times 10^4/\text{cmm}$	264	424	202
血色素 g/dl	7.0	14.0	5.7
ヘマトクリット%	24	42	17
網赤血球 %	21	26	6
血色素指数	0.82	1.03	0.88
栓球 $\times 10^4/\text{cmm}$	16.4	23.7	5.7
白血球 /cmm	9900	5100	1200

白血球像%

骨髓芽球			1
好塩基球	2		
好酸球	1.5		
好中球	前骨髓球	1	1
	骨髓球	3.5	
	後・骨髓球	3	13
	桿核球	10.5	6
	分節核球	43.5	71.5
淋巴球	23.5	20	4
単球	6	0.5	
形質細胞	1		
腫瘍細胞	4.5		2

b) 骨髓像検査成績

骨髓像では第3表のごとく、治療前著明な赤芽球系の低形成がみられ、腫瘍細胞は27.6%を占めた。写真1～2に示すごとく、腫瘍細胞は異型性が強く、大小種々で大型の細胞が80%を占め、大きさ24～26 μ と大きく、胞体は好塩基性で、核は10～18 μ と大きく、扁在傾向もみとめられ、なかには2核および3核のものもみとめられた。核網は粗剛でクロマチンはところどころで濃縮し、明瞭な大きい核小体が1～数個みとめられ、一見細網細胞に類似しているものも多く見られた。小型の細胞は形質細胞ないしリンパ球に類似し、大型の細胞との間には移行がみられた。

B.J.P 型骨髓腫の異型細胞の度合いについて、Olhagen ら⁸⁾は B.J.P が証明され、かつ γ -グロブリンの増加が著明でない場合に、未分化の細胞が多くみられると述べている。また Williamsら⁹⁾は骨髓腫細胞を形態から3型に分けて観察し、未分化な細胞の出現頻度は低 γ -グロブリン血症を呈する骨髓腫に多く見られたと述べているが、われわれの例と一致するものである。

表3 骨髓像

S. 44. 4/VII 22/X

部 位		胸 骨		胸 骨	
有核細胞		2.0×10^4		4.9×10^4	
骨髓巨核球		15		75	
原赤芽球				0.2	
巨赤芽球	好塩基性 多染性 正色性		%		%
大赤芽球	好塩基性 多染性 正色性	0.2 0.2	4.6	3.2 1.2	36.0
正赤芽球	好塩基性 多染性 正色性	3.4 0.6		3.4 28.0	
赤芽球系核分割像		1/500			
顆粒球系核分割像					
骨髓芽球		0.6			
好中球	前骨髓球 骨髓球 後骨髓球 桿核球 分節核球	1.6 0.6 4.8 16.6 15.6		1.6 2.0 6.8 3.6 18.2	
好酸球	前骨髓球 骨髓球 後骨髓球 桿核球 分節核球				32.2
		0.2 0.2			
好塩基球		0.2			
淋巴球		20.0		5.2	
単球		2.6		0.4	
細網細胞		3.4			
形質細胞		1.4		0.2	
腫瘍細胞		27.6		26.0	
M/E		8.8		0.9	

c) 位相差顕微鏡像

細胞の形態学的観察には位相差顕微鏡も活用されているので、その写真を3のA, B, Cに掲載

写真1 骨髓像1

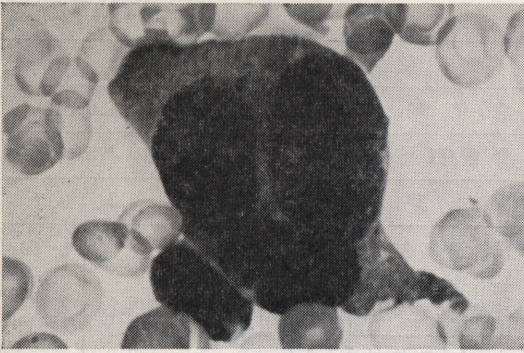


写真2 骨髓像2

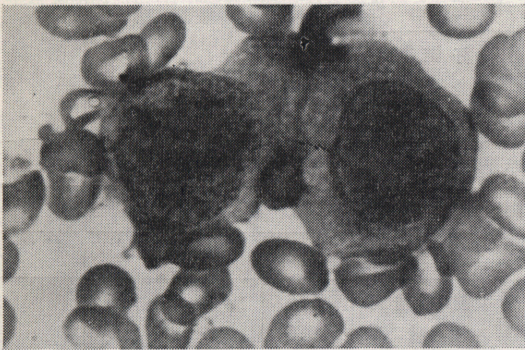
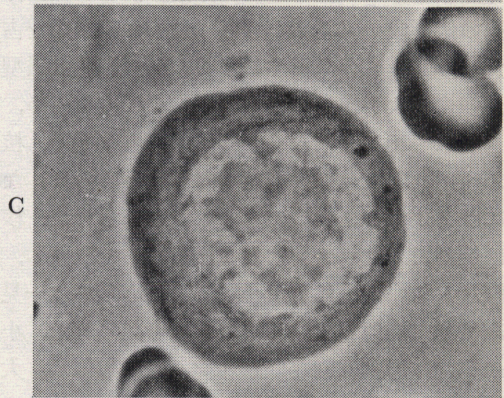
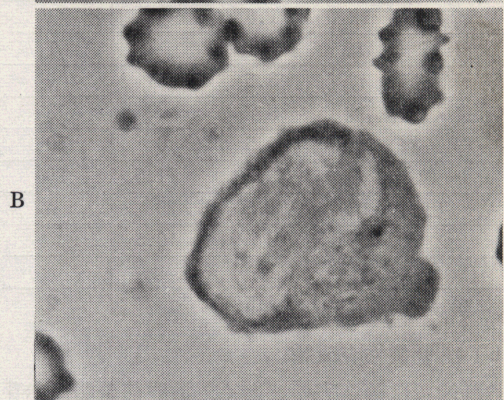
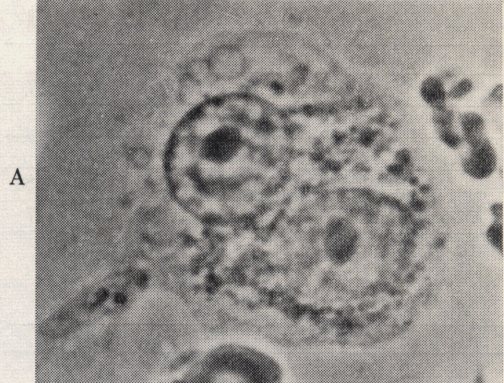


写真3 骨髓の位相差顕微鏡写真



した。

写真A：細胞が著しく大型で2核性，明瞭な核小体が認められる。細胞の辺縁は明瞭かつ平滑であるが，明らかな偽足を認める。胞体内には多数のリボゾーム様の顆粒および空泡変性をみとめる。

写真B：ミエローム細胞で，核胞体比は大きく，Aに比べ幼若型と思われる。この細胞ではよく発達したゴルジ野がみとめられる。

写真C：本細胞も核胞体比が大きく，巨大な核小体をみとめ，Bと同じく幼若型と思われる。顆粒および空泡変性は著しくないが，多数のミトコンドリアがみとめられる。

D) 電子顕微鏡像

電顕的には写真4のごとく光顕の所見と同じく，核胞体比が大きく，大きな核小体がみとめられる。胞体には粗面小泡体がやや層状にみとめられ，リボゾームの他ミトコンドリアもみとめられた。

貴重な症例の場合はその形態学的観察上，電像顕の必要を生ずる場合が多々あることと思われる。電顕標本の作製は大学や研究所に依頼するとし，その前操作である採血および固定はわれわれ技師として是非心得ておくべきであり，また難しいものでもないので簡単に紹介する。

末梢血の電顕固定法 (Anderson の方法²⁰⁾)

(イ) 採血：ヘパリン処理の注射器で採血して

写真4 電子顕微鏡写真



凝固を防ぐ。

(ロ) 遠沈：遠心沈澱（2,500回転20分間）。

(ハ) 固定：毛細管ピペットで上澄の血漿をとり、白血球層の上に静かに2.5%グルタルアルデヒド液を重層する。グルタルの固定時間15分、白血球層が固まったら、先端を曲げたガラス棒で白血球層を取り出す。取り出した白血球層を、脱脂したカミソリで1mmの大きさに細切する。

遠沈により白血球層は、最上層に血小板、その下にリンパ球、単球様細胞、最下層に赤血球に混ざった多核白血球細胞の層ができる。細切する場合にはこれらの全層が入るようにする。

(ニ) ふたたび2.5%グルタルアルデヒド固定液に入れる。

(ホ) 冷やしながら送付して、標本作製を依頼する。

固定液の処方

A液	H ₂ O	75ml
	カコジル酸 Na	4.28gm
	0.2M HCl	6～8ml

を加えてpHを7.4とする。H₂Oを加えて全量を100mlとする。

A液	50ml	} 固定液
H ₂ O	130ml	
25%グルタルアルデヒド	20ml	

表4 出血性素因検査成績

検査種目	成績
シリコン管 凝固時間(分)	18.0
ガラス管	13
血小板数	3.15×10^4
出血時間(分)	>30
ガラス管PTT(秒)	59.8
シリコン管PTT(秒)	237.8
act. PTT(秒)	35.4
プ・ト時間(秒)	14.4 (70%)
第Ⅱ因子(%)	198↑
Ⅴ〃〃(%)	190↑
Ⅶ〃〃(%)	194↑
Ⅷ〃〃(%)	296↑
Ⅸ〃〃(%)	196↑
Ⅹ〃〃(%)	305↑
接触因子(%)	180↑
プ・ト消費(%)	残存率 28
フィブリノーゲン(mg/dl)	911↑
トロンビン時間(秒)	14.4
STT-30分(秒)	23.8
Eug. L. T(分)	860
血餅退縮	不良
血小板第3因子(%)	44↓

3) 出血性素因検査成績

第4表に示すように、出血時間の延長、血小板の減少、血小板第3因子の低下があり、注目すべきことは凝血因子活性が、総て異常高値を示したことである。

本凝血因子の異常亢進の原因については不明であつた。

4) 電気泳動について

a) 血清：チゼリウス法²⁾（日立HTD-1型を使用。泳動条件100V、6mA、40分、燐酸緩衝液pH8.0イオン強度0.144を使用）で3～6%、セルローズアセテート法で4～8%と、終始低γ-グロブリン血症の泳動像がえられた。泳動像は図1～2に掲げた。

B) 尿：蛋白濃度が低いため、濃縮尿を用いて泳動を行なつた。濃縮法として下記の二法を用い

図1 血清蛋白泳動像 (チゼリウス法)

TP Alb α β γ
 7.6g/dl 76% 17% 10% 3%

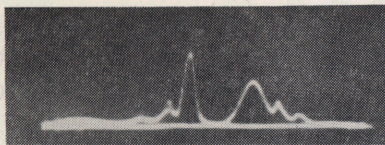


図2 血清蛋白分画像 (セルローズアセテート法)

TP 7.6g/dl
 Alb 66.4%
 α_1 7.1%
 α_2 11.4%
 β 10.0%
 γ 7.1%

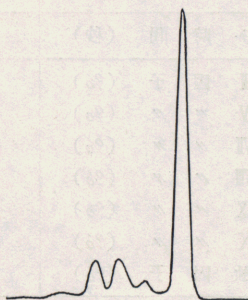


図3 濃縮尿の電気泳動像 (チゼリウス法)

M
蛋白
↓

M
蛋白
↓

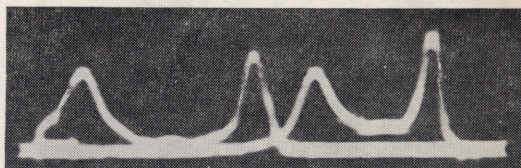
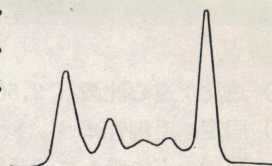


図4 濃縮尿の電気泳動像 (セルローズアセテート法)

Alb 36.6%
 α_1 7.3%
 α_2 9.8%
 β 14.6%
 γ 31.7%



た。

(イ) カーボワックス法

尿をセロファン紙に入れ、カーボワックス4,000の中に、軽く埋没させて濃縮を行なう。

(ロ) コロジオン膜を用い、陰圧を加え濃縮を行なう。

図3～4に示す泳動像は(イ)のカーボワックス法により原尿を約100倍に濃縮して泳動を行なったものである。mid γ -領域にバンドをみとめた

が、これは免疫電気泳動法により、K型B.J.Pと同定された。

5) 免疫電気泳動

抗ヒト全血清を用いて、血清および尿の免疫電気泳動を行なった。同時にIgG、B.J.PのK型；およびL型の抗血清を用いて抗体の同定検査を行ない、図5に示すごとく、B.J.P (K)の抗血清

図5 血清及び尿の免疫電気泳動像

対照血清

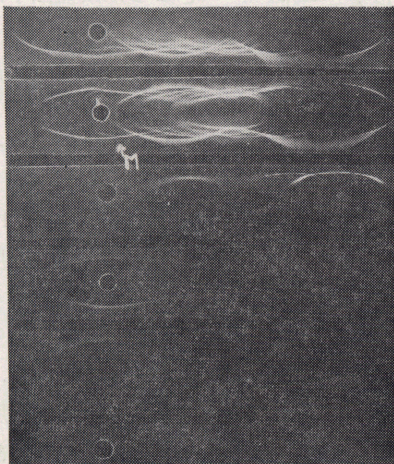
患者血清

尿

患者血清

尿

患者血清



←全抗人血清

←全抗人血清

← γ G 抗血清

BJP
 ←K 型抗血清

BJP
 ←L 型抗血清

に沈降線をみとめ、K型と決定した。

本例は免疫グロブリンの減少が著明で、特にIgA, IgMは定性反応ではその沈降線がみとめられなかった。死亡9日前のimmunoplate法による定量検査で、IgG 150mg/dl, IgA 14mg/dl, IgM

表5 免疫グロブリンの種類
Heavy Chain と Light Chain の名称

	Heavy Chains	Light Chain	type K molecules	type L molecules
IgG	γ (gamma)		κ (kappa)	λ (lambda)
IgA	α (alpha)		κ (kappa)	λ (lambda)
IgM	μ (mu)		κ (kappa)	λ (lambda)
IgD	δ		κ (kappa)	λ (lambda)
IgE	ϵ		κ (kappa)	λ (lambda)

γ G グロブリンの分解物の名称

現在の名称	在 来 の 名 称		
Fab fragment	I, II	or A, C	or S
Fc fragment	III	or B	or F
Fd fragment	A	piece	
F(ab) ²	5S	peptic	fragment
Fab'	univalent	peptic	fragment

は微量のため検査不能であつた。

現在免疫グロブリンは、表5⁴⁾¹⁸⁾に示すように5種類が知られている。これらの抗血清は容易に入手でき、しかも操作が比較的簡単であり、抗体の同定検査は是非行なうべきである。IgG, IgA, IgMの抗血清は以前から市販されており、最近ではIgD, IgEの入手も可能となつた。さらにB.J.PのK型, L型の抗血清や、IgGのFab, Fc, Fdフラグメントの抗血清も市販されており、これらを準備して骨髓腫や、マクログロブリン血症、H鎖病、良性単一クローン性 γ -グロブリン血症の診断に積極的に役立てるべきである。

骨髓腫の分類について以前は電気泳動像により、どの位置に強いピークを示すかによつて、 γ 位に位置するものを γ 型骨髓腫、同様に β 型骨髓腫、あるいは α 型骨髓腫というようによばれていた。しかし近年免疫化学の進歩により γ -グロブリンの属するクラスに基礎をおく分類がより正確であるとの観点より、只今ではこの分類が採用されている。例えば γ Gをみても γ - β - α_2 の近くまで沈降線がいつている。したがつて β の易動度をもつ γ Gをつくっているcloneが増殖すると、そこから β の易動度を持つ γ Gグロブリンが沢山でてくる。普通の电泳パターンでは、あたかも β が増加しているようにみえるが、実際は γ Gに属し

図6 症例

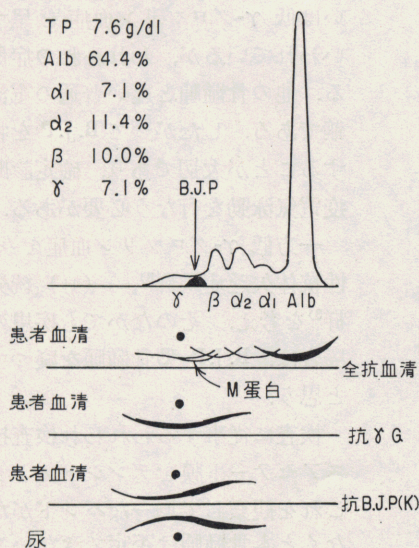
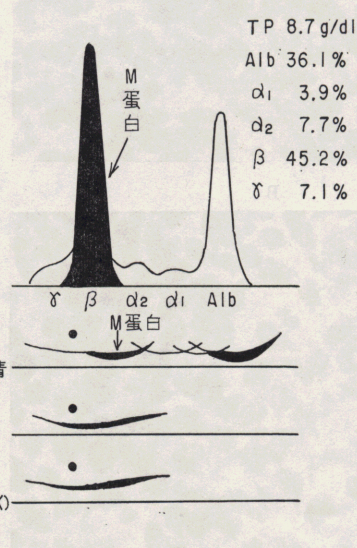


図7 ホヂキン氏病例



ているわけであり、 γ Gとよばなければならない。すなわち M-成分がどの免疫グロブリンに属するかによって名をつけたほうが正確で、より合理的である。この場合は G-myeloma とよぶようになった。

電気泳動像と、免疫電気泳動像の異なる例として、われわれはホヂキン氏病患者で、M-蛋白の出現したのを経験しているが、この M-蛋白はセルローズアセテート電気泳動上では β 位にピークを形成したが、免疫泳動ではこの M-蛋白は IgG と同定されたK型と判定された。

参考まで本K型 B.J.P 型骨髓腫例とホヂキン氏病例を図6, 7に掲げた。

6) 病理解剖所見

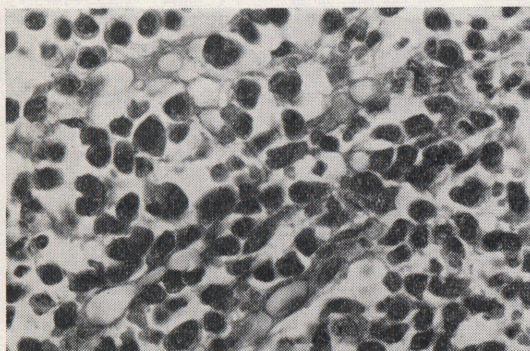
病理解剖学的に骨髓腫と診断された。

A) 異型性の著明な形質細胞系細胞の骨髓(肋骨, 胸骨, 腰椎)増殖をみとめた。

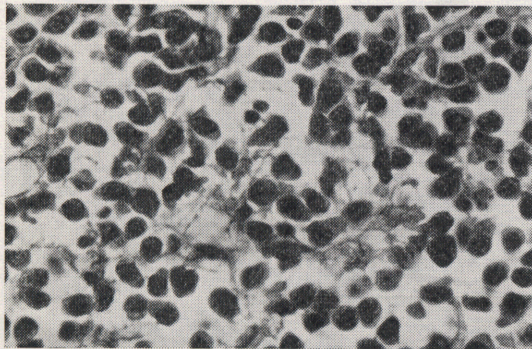
胸骨の顕微鏡写真を5~A, Bに掲げた。組織内の細胞はほとんど形質細胞系の腫瘍細胞で占められている。

写真5 骨髓(胸骨)病理組織標本

A



B



B) 脾, リンパ節, 肺, 肝, 腎, 脾臓に腫瘍細胞の浸潤があつた。

C) 尿細管腔内の蛋白円柱形成が散見され、さらに尿細管上皮の軽度な変性と、間質の結合組織の増殖が、両側の腎にみとめられた(骨髓腫腎)。

総括ならびに考按

免疫グロブリンの命名については、諸家によっていろいろ名付けられていたが、1964年以降WHO委員会の命名で、L-chain は2型に分類されK型、L型とよぶことに統一され、K型にはK (kappa), L型には λ (lambda) の記号が与えられた。この2型のL-chain はすべての免疫グロブリン(IgG, IgA, IgM, IgD, IgE)に共通に見いだされる。

H-chain($\gamma, \alpha, \mu, \delta, \epsilon$)はこの2型のL-chain のいずれかと結合してそれぞれの class 特異性の発現にあずかる。H-chain とL-chain は $2 \times (L + H)$ の形で免疫グロブリン分子を形成している。

B.J.P はM-蛋白の構成成分であり、すべての免疫グロブリンに共通に存在するL-chain のstable dimer である。その生成についてはM-蛋白合成過程におけるなんらかの障害により、H-chain と結合することなく、L-chain 同志がstable dimer をつくり、これが骨髓腫細胞から放出されたものであると考えられている。

B.J.P 型骨髓腫では血清蛋白像は正常か、あるいは低 γ -グロブリン血症を呈することが多いといわれているが、われわれの症例もその一例である。他の骨髓腫と違い普通の電泳上では区別が困難である。したがってB.J.P を特に注意深く検査することが大切であり、確定診断には是非とも免疫電気泳動を行なう必要がある。

一方低 γ -グロブリン血症をみたら(イ)原発性抗体欠乏症候群⁸⁾, (ロ)続発性抗体欠乏症候群⁹⁾を考え、そのなかでも疾患のはつきりしない場合は、B.J.P 型骨髓腫を疑ってみる必要があると思う。

検査に従事するわれわれ検査技師は、セルローズアセテート膜をデンストメトリーする前によくこれを観察して均一なバンドがないか、バンドがなくとも骨髓腫は否定できないことを、つねに念

頭において検査すること。デンストメトリーして分画を%であらわし、その数値だけをみると、異常に高いか低いかでないと骨髓腫、良性単クローン性 γ -グロブリン血症、および抗体欠乏症候群は見落される危険性のあることに注意を払いつつ勤務すべきであると考える。

骨髓腫患者の約60%は尿中に B.J.P が出現する^{7,8)}といわれ、西條⁸⁾によれば 280例中36例(12.8%)が B.J.P 型骨髓腫と記載されている。B.J.P の検出については Jacobson 法⁵⁾ Sand Kühler法⁵⁾あるいは Effersøe-Tidstrøm 変法¹⁰⁾といろいろあるが、成書記載のとおり注意深く行なうことが大切で、単なる加熱試験、あるいは酢酸々性尿としての検査では見落すおそれがある。また試験紙法でも同様である。われわれは2M酢酸緩衝液による法が、簡易迅速であるのでこれにより検査を実施している。また併せて Ouchterlony 一次元寒天拡散法、あるいは免疫電気泳動法を行なっているが、免疫電気泳動法は特異性、感度ともに非常にすぐれている。

B.J.P 検出濃度については、今村¹⁸⁾によれば塩析法の P-toluensulfon 酸法で約 0.5mg/ml 以上、リン酸ナトリウム液を使う比濁法では 0.2mg/ml 以上、ふつう行なわれる加熱試験では 1.2mg/ml 以上で陽性といわれるが、免疫化学的検査方法では 0.003~0.02mg/ml 以上で陽性で非常に感度が高い。最終的には免疫化学的検査を行なうのが一番よい方法である。

む す び

腫瘍細胞の異型性が強く、血液凝固因子活性の異常に亢進をみとめた、K型 Bence-Joncs 蛋白型

骨髓腫の一例を報告した。本例は γ -グロブリンが異常に低値を示し、免疫グロブリンも同様異常低値を示した。

擲筆するにあたり御指導を賜った、竹本病院長、三浦副部長、新潟大学医学部病理学教室岡崎先生、秋田大学医学部助教授柴田先生、同じく菅原先生に深く感謝の意を表する。

参考文献

- 1) 日本血液学会編：日本血液学全書 5, 2 版, p. 465, 丸善.
- 2) 電気泳動学会編：電気泳動実験法, 第4版, p. 33~39, 文光堂.
- 3) 河合忠：血漿蛋白その基礎と臨床, 第1版, 639~649, 649~654, 医学書院.
- 4) 松橋 直, 鈴木秀郎：免疫グロブリン, 初版追補, 10~74, 中外医学社.
- 5) 日野志郎：臨床病理, III (4), 290~298, 1960.
- 6) 藤井暢三：臨床検査, XII (10), 991~995, 1966.
- 7) 河合 忠：臨床検査, XII (11), 779~785, 1967.
- 8) 和田武雄他：代謝, V (9), 658~667, 1968.
- 9) 桃井宏直：医学のあゆみ, 62 (14), 902~912, 1967.
- 10) 和田武雄：内科, 15 (6), 1047~1055, 1965.
- 11) 桃井宏直：代謝, 2 (10), 827~840, 1965.
- 12) 右田俊介：蛋白質, 核酸, 酵素, 11 (3), 165~178.
- 13) 浜岡利之他：臨床検査, 15 (9), 865~871, 1971.
- 14) 今村幸雄：臨床検査, 15 (9), 872~878, 1971.
- 15) 平松誠一他：臨床科学, 7 (8), 935~948, 1971.
- 16) 桃井宏直：臨床科学, 7 (8), 988~991, 1971.
- 17) 尾上 薫：免疫の生化学, 第1版, 124~145.
- 18) 今村幸雄他：臨床検査, 15 (11), 1100~1105, 1971.
- 19) 曾根 淳：臨床病理, 19 (4), 280~284, 1971.
- 20) 日本電子顕微鏡学会関東支部編：電子顕微鏡試料技術集, p. 295~297, 誠文堂新光社.